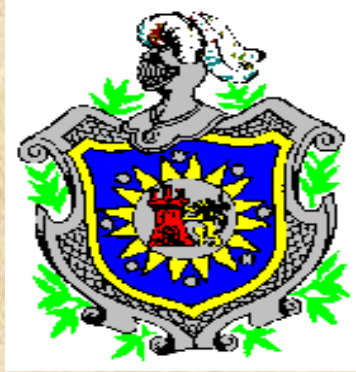


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO "RUBÉN DARÍO"
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

SECCIÓN DE BIOQUÍMICA



**INSTRUCTIVO Y PROGRAMA
DE BIOQUIMICA I**

Docentes:

**M.Sc. José Tomás Dávila Arriola
Profesor Principal de Bioquímica**

Dr. Sc. René Silva Arrechavala

M.Sc. Marilu Cerda Lira

Curso Académico 2009

CONTENIDO:

PRESENTACION

RECOMENDACIONES

EXTRACTOS DEL REGLAMENTO ESTUDIANTIL

PLAN CALENDARIO

PROGRAMA DE BIOQUIMICA I

Muy queridos (as) estudiantes, el Colectivo de Bioquímica se complace en darles la bienvenida al Curso de Bioquímica I. Nuestro curso tiene un total de 75 horas, de las cuales 61 son dedicados a las conferencias y 14 a los seminarios.

Este curso está diseñado sobre tres grandes ejes temáticos, que son, a) El mantenimiento del Balance Energético, b) El mantenimiento de la masa tisular, y c) Eliminación de los desechos y de las toxinas.

El curso entero (conferencias y seminarios) está diseñado para confrontarlos con la relevancia fisiológica y clínica de los procesos metabólicos de nuestro organismo.

El presente curso de Bioquímica I está construido sobre los siguientes principios:

1. El cuerpo humano es una unidad indivisible de estructura, función y metabolismo.
2. A cada función fisiológica le subyace un proceso metabólico.
3. Todo proceso patológico está acompañado de una disfunción y/o adaptación metabólica.
4. El metabolismo es una unidad indivisible y dinámica.
5. El metabolismo se adapta a diferentes situaciones fisiológicas, normales o patológicas.

Para ser consecuentes con los principios mencionados, los seminarios se diseñaron en forma de casos clínicos, ya que de esta manera podrán observar en algunos casos cómo el metabolismo se adapta a determinadas condiciones fisiológicas actuando como un "todo integrado", y en otros casos, la disfunción fisiológica es sólo el reflejo de una disfunción metabólica.

Valga una palabra de atención, en el sentido de insistir sobre el hecho, de que con los casos clínicos de los seminarios, lo único que se pretende es tener un marco de referencia fisiológico dentro del cual poder discutir los procesos metabólicos particulares.

Lo único a lo que estará obligado cada estudiante es a tener un conocimiento general de la situación clínica que se le presenta, de tal suerte que eso le permita explicar el funcionamiento del metabolismo.

Es fundamental de que cada estudiante se apegue a lo que se le plantea aquí, con el fin de racionalizar sus esfuerzos y alcanzar el éxito.

Estimados (das) jóvenes, el colectivo de Bioquímica los invita a disfrutar de Bioquímica.

Aquí estamos todos para servirles y escucharles.

RECOMENDACIONES

I. PERSONALES:

1. **Pensá positivo sobre vos mismo y sobre todos los que te rodean.**
2. **Respeta a todos y date a respetar de todos.**
3. **Confía siempre en tu capacidad y en la de las personas que te rodean.**
4. **Evita etiquetar negativamente y que te etiqueten.**
5. **Contale siempre tus problemas a alguna persona. Te vas a sentir mejor.**
6. **Hacé ejercicio todos los días. Es bueno para eliminar el estrés del estudio.**
7. **Toma suplementos de vitaminas y minerales (especialmente Hierro y Complejo B). Es muy bueno para compensar el desgaste nervioso que provoca el estudio. Está comprobado que las deficiencias vitamínicas pueden disminuir el rendimiento intelectual y físico.**
8. **Divertite sanamente. Hace vida social.**
9. **Dormí tus 8 horas completas. Necesitas regenerar tu cuerpo y tu mente todos los días.**
10. **Mirá siempre lo bueno que hay en las personas, y sobre todo en vos mismo.**
11. **Protégete siempre. Evita todo lo que pueda truncar tus sueños.**

II. ACADÉMICAS:

1. **Organiza todo tu tiempo. La planificación del tiempo es el primer paso hacia el éxito. Recuerda dejarte un tiempo para cada cosa. (También para el relax).**
2. **Trabaja duro y con mucha honestidad. Acuérdate de que sin esfuerzo no hay gratificación.**
3. **Apégate siempre al espíritu y a los objetivos del programa. Al estudiar un proceso, acuérdate siempre, busca el sentido fisiológico y/o la consecuencia clínica del mismo. Acuérdate siempre de ver el metabolismo como un todo integrado.**

4. Pídele siempre orientación a tu Docente sobre cómo abordar temas determinados.
5. Pedí ayuda a tu Docente cuando no puedas entender algo por tu propio esfuerzo. Pedí ayuda inmediatamente. Evita esperar hasta que ya estés reprobado.
6. Estudia en grupo. Es más divertido y más fácil.
7. Asistí siempre a tus conferencias y concéntrate en ellas.

EXTRACTOS DEL REGLAMENTO ESTUDIANTIL

1. Los seminarios de la asignatura serán reprogramados sólo por causas médicas bien justificadas.

Para esto el estudiante deberá presentar constancia médica y epicrisis debidamente firmadas, selladas y con el código del médico tratante.

De no cumplir con estas condiciones la reprogramación no será autorizada por el docente responsable del grupo de conferencias. Las justificaciones médicas deberán ser presentadas al docente a más tardar 48 horas después de la fecha del seminario. Este tiempo podrá ser excedido sólo cuando existan razones comprobables de fuerza mayor.

2. Los exámenes de la asignatura serán reprogramados sólo por causas médicas bien justificadas.

Para esto el estudiante deberá presentar constancia médica y epicrisis debidamente firmadas, selladas y con el código del médico tratante.

La solicitud de justificación deberá ser presentada por escrito (anexando todas las constancias) a la Secretaría Académica, en un lapso no mayor de 48 horas, salvo casos de fuerza mayor demostrables.

La Secretaría académica determinará el mérito de la solicitud y girará instrucciones escritas al Profesor Principal de la Sección de Bioquímica, para reprogramar el examen, en un lapso no mayor de 4 semanas después de finalizado el período ordinario de exámenes.

3. Las solicitudes de reprogramación de seminarios y exámenes por causas no médicas deberán ser dirigidas a los Docentes responsables de conferencias, y

de la Secretaría Académica, respectivamente, para su debido análisis y resolución.

Algunos ejemplos para ésta última situación serían defunciones de familiares en primer grado, asistencia a eventos deportivos, culturales o científicos en calidad de representante de la UNAN – Managua, o de la Facultad de Ciencias Médicas.

4. Para tener derecho al examen especial de la asignatura, el estudiante deberá haberse presentado a los dos exámenes parciales.

SECCIÓN BIOQUIMICA**PLAN CALENDARIO DE BIOQUIMICA-I-2009**

SEMANA	FECHA	TEMA	HORAS	ACTIVIDAD
1	9-13 Marzo	CONCEPTOS GRALES. DEL METABOLISMO	2	CONF.
		GLUCÓLISIS	2	CONF.
2	16-20 Marzo	CICLO DE LAS PENTOSAS Y DESCARBOXILACIÓN OXIDATIVA DEL PIRUVATO	2	CONF.
		CICLO DE KREBS	2	CONF.
		Laboratorio # 1	2	Lab.
3	23-27 Marzo	TRANSPORTE ELECTRONICO	2	CONF.
		FOSFORILACION OXIDATIVA		CONF.
			2	
4	30 Marzo-3 de Abril	METABOLISMO DEL GLUCOGENO	2	CONF.
		GLUCONEOGENESIS	2	CONF.
		Laboratorio # 2	2	Lab.
	6-10 Abril	SEMANA SANTA		
5	13-17 Abril	BETA OXIDACION	2	CONF.
		METABOLISMO DE CUERPOS CETONICOS	2	CONF.
6	20-24 Abril	SÍNT. DE AC. GRASOS	2	CONF.

		SÍNTESIS Y DEGRADACION DE TAG	2	CONF. Lab.
7	27 Abril-1º de Mayo	Laboratorio # 3 HOMEOSTASIA CALORICA	2	CONF.
	Feriado Nacional	SINTESIS DE NUCLEOTIDOS Y REPLICACIÓN DEL ADN	2	CONF.
8	4 - 8 Mayo	TRANSCRIPCIÓN DEL ADN Y CÓDIGO GENÉTICO	2	CONF.
		TRANSLACIÓN PRIMER EXAMEN PARCIAL	2	CONF. EXAMEN
9	11-15 Mayo	MUTACIONES Y MECANISMOS DE REPARACION	2	CONF.
		MECANISMOS DE REGULACION GENETICA PRIMER EXAMEN PARCIAL	2	CONF. EXAMEN
10	18-22 Mayo	MECANISMOS DE DETOXIFICACION HEPATICA	2	CONF.
		ELIMINACION DEL NITROGENO NUCLEICO	2	CONF.
		Laboratorio # 4	2	Lab.
11	25-29 Mayo	ELIMINACION DEL NITROGENO PROTEICO	2	CONF.
		METABOLISMO DEL COLESTEROL	2	CONF.

12	1 – 5 Junio	TRANSPORTE DEL COLESTEROL	2	CONF.
		FORMACION DE LA PLACA ATEROMATOSA	2	CONF.
		Laboratorio # 5	2	Lab.
13	8-12 Junio	CONCEPTOS GENERALES DE NUTRICION	4	CONF.
14	15-19 Junio	CALCULO DE DIETA	2	CLASE PRÁCTICA
		VITAMINAS	2	CONF.
		Laboratorio # 6	2	Lab.
15	22-26 Junio	VITAMINAS	1	CONF.
		MINERALES	3	CONF.
		Laboratorio # 7	2	Lab.

SEGUNDOS EXAMENES PARCIALES: 30 de Junio al 10 de Julio.

EXAMENES ESPECIALES: 13-17 de Julio.

PROGRAMA DE BIOQUIMICA I

CONTENIDO DEL PROGRAMA:

- I. Generalidades
- II. Objetivo General del programa
- III. Objetivos de Unidades.
- IV. Sistema de Objetivos Uniformes para todos los temas.
- V. Objetivos para cada tema
- VI. Contenido del Programa por temas.
- VII. Contenido de Unidades.
- VIII. Contenido Analítico Uniforme para los temas
- IX. Sistema de Evaluación
- X. Bibliografía
- XI. Guías de Laboratorios

I. GENERALIDADES

Asignatura:	Bioquímica - I
Carrera:	Medicina
Año en que se Imparte:	Segundo Año
Semestre en que se Imparte:	Primer Semestre
Horas Totales:	75
Horas de Conferencia:	61
Horas de Seminarios:	14
Promedio de Estudiantes atendidos en los últimos 6 años:	300
Requisitos Actuales:	Ninguno
Requisitos Propuestos:	Ideal sería Biología e Introducción a las Ciencias Fisiológicas (ICF). Sólo ICF, sería satisfactorio.
Pre - Requisito para alguna Asignatura:	Actualmente, para ninguna.
Propuesta:	Requisito para Bioquímica II (Bioquímica Clínica).
Rendimiento Promedio en los últimos 10 años:	Aproximadamente 50 %
Número de Promedio Repitentes:	Aproximadamente 100.

II. OBJETIVO GENERAL DEL PROGRAMA:

Al final de este curso el estudiante será capaz de explicar como funcionan los principales procesos metabólicos y los mecanismos moleculares que le subyacen a la función fisiológica de células, tejidos, y órganos del cuerpo humano, bajo distintas condiciones fisiológicas.

III. OBJETIVOS DE UNIDADES:

1. METABOLISMO ENERGÉTICO:

Explicar los procesos y mecanismos bioquímicos que utiliza el cuerpo humano para mantener la homeostasia calórica frente a distintas condiciones fisiológicas.

2. METABOLISMO REGENERATIVO:

Explicar la relación que existe entre el metabolismo del ADN, la síntesis de proteínas y el mantenimiento de las funciones celulares y tisulares bajo distintas condiciones fisiológicas.

3. MECANISMOS DE DETOXIFICACIÓN:

Explicar el funcionamiento de los procesos y mecanismos bioquímicos que utiliza nuestro organismo para eliminar sustancias tóxicas endógenas y xenobióticos, bajo distintas condiciones fisiológicas.

4. METABOLISMO DEL COLESTEROL:

Explicar la relación entre el metabolismo del colesterol y la función cardiovascular.

5. NUTRICIÓN HUMANA:

Explicar la relación que existe entre el funcionamiento del cuerpo humano y un estado nutricional particular

IV. SISTEMA DE OBJETIVOS UNIFORMES PARA TODOS LOS TEMAS:

El Sistema de Objetivos de un Programa representa un compromiso entre el Departamento docente y el estudiantado:

Para el docente, significa el “qué”, en relación a los contenidos, y el “cómo” en relación a la forma de abordaje.

Para el estudiante, significa el “qué”, en relación a lo que tiene que estudiar, y el “cómo”, en relación al contexto en el que debe estudiarlo.

La observación rigurosa de todo el sistema de objetivos, tanto, por docentes, como por estudiantes, es uno de los fundamentos principales del éxito académico. Debemos respetarlos y hacerlos respetar.

Se sabe que el uso y aplicación de estos objetivos ha constituido un foco de conflictos académicos por muchos años. La presente propuesta de un sistema de objetivos únicos que son idénticos para todos los temas del programa es un instinto de racionalizar y de facilitar a todos los actores del proceso educativo.

Esto sucede en la medida que eliminamos unos 200 objetivos (aproximadamente), que son en apariencia distintos y particulares, pero que al revisar cada uno de los temas del programa, y hacer una abstracción, se reducen a unos pocos objetivos uniformes e idénticos para cada tema.

Se debe hacer notar de que este tipo de objetivos uniformes no son aplicables a cualquier programa de asignatura pero que nuestra asignatura y nuestro programa tienen características que si lo permiten.

Dado que el presente programa está construido sobre el concepto de Lo mínimo necesario para entender el funcionamiento del organismo frente a distintas condiciones, este Sistema de Objetivos Uniformes tiene la ventaja de coincidir con los contenidos de cada tema, de tal suerte que al saber el título del tema y los objetivos uniformes automáticamente se derivan los contenidos analíticos de los temas.

También se debe advertir que aunque todo este esfuerzo va dirigido a facilitar la apropiación del sistema de objetivos, la apropiación misma es un proceso activo que depende del esfuerzo individual

V. OBJETIVOS PARA CADA TEMA

Al final de cada tema el estudiante deberá ser capaz de:

1. Enunciar el concepto de cada proceso metabólico.
Ejemplo: ¿En qué consiste la Glucólisis?
2. Aplicar un sistema de clasificación si lo hubiese.
Ejemplo: ¿A qué tipo de hiperlipidemias pertenecen las hipercolesterolemias?
3. Indicar la localización tisular e intracelular de cada proceso metabólico.
Ejemplo: ¿En qué órgano se localiza el Ciclo de la Urea?
4. Indicar la función biológica de cada proceso metabólico (Esto equivale a indicar el destino metabólico y/o fisiológico de los metabolitos de una ruta).
Ejemplo: ¿Para qué se sintetiza glucógeno en el músculo?
5. Indicar los hechos metabólicos que provocan diferencia de función biológica en los distintos tejidos.
Ejemplo: ¿Por qué el glucógeno muscular no participa en el mantenimiento de la homeostasia de la glucosa sanguínea?
6. Indicar el origen de los sustratos para cada proceso metabólico en dependencia de una condición fisiológica particular.
Ejemplo: ¿De dónde se obtiene la glucosa para la glucólisis en condición de ayuno?
7. Indicar las principales reacciones de cada proceso metabólico, poniendo especial énfasis en aquellas que permiten cumplir la función biológica de la ruta en cuestión.
Ejemplo: ¿Cuál es la enzima que permite la salida de la glucosa hepática hacia la circulación?
8. Explicar la lógica de la regulación hormonal y alostérica (haciendo énfasis en la regulación hormonal) de la función biológica de cada ruta frente a distintas condiciones fisiológicas (normales o patológicas).
Ejemplo: ¿Por qué es lógico que la Citrato Liasa se encuentre disminuida cuando se eleva el glucagón plasmático?
Ejemplo: ¿Qué estado nutricional estimula la liberación de insulina?
9. Explicar la relación entre la actividad de un proceso metabólico dado y una condición fisiológica particular (normal o patológica).
Ejemplo: ¿Por qué se aumenta la gluconeogénesis bajo diabetes?

Todo lo anterior se puede resumir de la siguiente forma:

Al final de cada tema el estudiante deberá ser capaz de responder las siguientes preguntas:

1. ¿En qué consiste el proceso metabólico?
2. ¿En qué órgano está ubicado?
3. ¿Qué es lo que produce y cuál es su destino metabólico, bajo distintas condiciones?
4. ¿Cuál es el origen metabólico de los sustratos para la ruta bajo distintas condiciones?
5. ¿Cuáles son las principales reacciones que sustentan la función biológica?
6. ¿Cómo se sincronizan e integran la actividad de la ruta particular con el resto del metabolismo y de la función fisiológica macroscópica?
7. ¿Cómo se relaciona la actividad de los procesos metabólicos con la función fisiológica (normal o patológica)?

1. Conceptos Generales del Metabolismo
2. Glucólisis.
3. Vía de las Pentosas
4. Descarboxilación Oxidativa del Piruvato
5. Ciclo de Krebs.
6. Transporte Electrónico.
7. Fosforilación Oxidativa.
8. Metabolismo del Glucógeno.
9. Gluconeogenesis
10. Beta Oxidación de Acidos Grasos
11. Metabolismo de los Cuerpos Cetónicos.
12. Síntesis de Ácidos Grasos.
13. Síntesis y Degradación de los Triacilglicéridos.
14. Homeostasia Calorica.
15. Síntesis de Nucleótidos.
16. Replicación del ADN.
17. Transcripción
18. Código Genético.
19. Translación.
20. Regulación Genética.
21. Mutaciones y Mecanismos de Reparación.
22. Mecanismo de Detoxificación Hepática
23. Eliminación del Nitrógeno Nucleico.
24. Eliminación del Nitrógeno Proteico.
25. Metabolismo del Colesterol.
26. Transporte del Colesterol.
27. Formación de la Placa Ateromatosa.
28. Conceptos Generales de Nutrición.
29. Cálculo de Dietas.
30. Vitaminas.
31. Minerales.

UNIDAD 1: METABOLISMO ENERGÉTICO

TEMAS:

Conceptos generales del Metabolismo, Glucólisis Aeróbica y Anaeróbica, Vía de las Pentosas, , Ciclo de Krebs, Transporte Electrónico, Fosforilación Oxidativa, Metabolismo del Glucógeno, Gluconeogenesis, Beta Oxidación de los ácidos grasos, Metabolismo de Cuerpos Cetónicos. Síntesis de ácidos grasos, Síntesis y Degradación de Triacilglicéridos, Homeostasis Calorica.

UNIDAD 2: METABOLISMO REGENERATIVO

TEMAS:

Síntesis de Nucleótidos, Replicación del ADN, Transcripción del ADN, Código Genético, Translación, Mutaciones y sus Mecanismos de Reparación. Regulación Genética.

UNIDAD 3: MECANISMOS DE DETOXIFICACION

TEMAS:

Mecanismos de Detoxificación Hepática, Eliminación del Nitrógeno Nucleico, Eliminación del Nitrógeno Proteico.

UNIDAD 4: METABOLISMO DEL COLESTEROL

TEMAS:

Síntesis del Colesterol, Transformación del Colesterol, Transporte del Colesterol, Formación de la placa ateromatosa.

UNIDAD 5: NUTRICION HUMANA

TEMAS:

Conceptos Generales de Nutrición, Cálculo de Dietas, Vitaminas, Minerales.

En cada tema serán abordados los siguientes aspectos:

1. Conceptos del Proceso.
2. Localización Tisular e Intracelular del Proceso / Localización Tisular.
3. Función biológica del proceso.
4. Reacciones claves del proceso (reacciones que sustentan la función biológica).
5. Origen metabólico de los sustratos para el proceso bajo condiciones fisiológicas distintas. Particularmente buena alimentación y ayuno.
6. Destino metabólico de los productos del proceso bajo condiciones fisiológicas distintas. Particularmente buena alimentación y ayuno.
7. Regulación hormonal y alostérica del proceso, poniendo énfasis en la integración del proceso particular con el resto de las rutas metabólicas y la función fisiológica macroscópica del cuerpo humano.

IX. SISTEMA DE EVALUACION

El presente programa será evaluado de la siguiente forma:

Se realizarán dos Parciales en el Semestre. La nota de cada Parcial se repartirá en un 60% para el examen escrito y en un 40% para los seminarios.

Al final se promediaran las notas de ambos parciales, de donde se obtendrá la nota final del curso.

X. BIBLIOGRAFIA

La presente bibliografía le permitirá profundizar sobre los temas tratados en conferencia y para los seminarios.

1. Apuntes de las conferencias.
2. Compendio de los Docentes.
3. Bioquímica de Montgomery. 6^{ta} edición o mayor.
4. Bioquímica de Harper. 15^{va} Edición o mayor.
5. Bioquímica de Lehninger. Cualquier edición.
6. Bioquímica de Mathews, Van Holde. 3^a edición o mayor.
7. Bioquímica de Devlin. Cualquier edición.
8. Bioquímica de Lehninger.
9. Medicina Interna de Harrison.
10. Farmacología clínica
11. Libros de Nutrición Humana, o los capítulos de nutrición de los libros de Pediatría (Seminario VII)

XI. GUIAS DE LABORATORIOS

A continuación se le presentan las guías de laboratorios con una serie de preguntas y ejercicios, cuya resolución le ayudará a cumplir con los objetivos de aprendizaje de cada uno de ellos.

Recuerde que el docente, para evaluar el cumplimiento de los objetivos, podrá modificar las preguntas existentes o agregar nuevas preguntas durante la discusión del seminario.

Analice siempre, porque si usted se presenta al laboratorio sólo con la información aprendida de memoria, entonces no tendrá el éxito que usted espera.

Consulte con su docente antes de cada laboratorio para obtener indicaciones de como prepararse de manera óptima.

Bienvenidos/as al Laboratorio de Bioquímica. Para tener derecho a realizar las prácticas de laboratorio debes cumplir con los siguientes requisitos:

- 1. Presentarte puntualmente.**
- 2. Portar gabacha.**
- 3. Permanecer en el cubículo que se te asigne.**
- 4. Apagar los celulares.**
- 5. Hablar en voz baja.**
- 6. No beber, comer, ni fumar.**
- 7. No traer gorras, sombreros, ni pañoletas.**
- 8. Cuidar la propiedad del lab.**
- 9. Mantener una actitud de respeto.**
- 10. Seguir las instrucciones que se te den.**
- 11. Manipular equipos, instrumentos, materiales o reactivos químicos sólo bajo la supervisión de tu Docente.**
- 12. Traer preparada y resuelta la guía de la práctica correspondiente.**

Si incumples estas disposiciones se te negará el acceso o se te pedirá que abandones el local. En ese caso perderás la actividad sin derecho a reprogramación y se te consignará la nota “CERO”.

1. Demostración de la presencia de metabolitos y enzimas en sangre.
2. Demostración de la actividad glucolítica en eritrocitos.
3. Demostración de la homeostasis calórica en sangre.
4. Determinación de productos de eliminación del catabolismo de las proteínas y de las bases nitrogenadas en sangre.
5. Determinación del índice aterogénico (índice de Castelli).
6. Determinación de la ingesta de micro y macronutrientes.
7. Tema pendiente de definición.

Nota importante: La práctica de laboratorio # 6 requiere que usted realice trabajo previo, como requisito **para tener derecho a realizar** dicha práctica. Revise la guía # 6 y realice con suficiente tiempo de antelación las tareas que se describen!

INTRODUCCIÒN

Los Profesores de la Sección de Bioquímica nos complacemos en presentarte esta guía de prácticas de laboratorio para Bioquímica-I.

Con estas actividades de laboratorio pretendemos generar la oportunidad para que aprendas como obtener un vistazo “in vivo” de algunos de los procesos metabólicos más relevantes para el funcionamiento del cuerpo humano. A lo largo del curso te familiarizarás con la Espectrofotometría, una de los métodos analíticos más utilizado en la investigación biomédica.

Como bien sabemos, el buen o mal funcionamiento de los órganos, tejidos y células depende del funcionamiento de las diferentes rutas metabólicas. Así, por ejemplo, cuando queremos explorar la función hepática, verificamos la actividad de las Transaminasas (entre otros), porque sabemos que las reacciones de transaminación ocurren en el hígado, como parte de la ruta de eliminación del nitrógeno de origen proteico. Así pues, cuando estas Transaminasas están aumentadas en sangre, sabemos que hay algún tipo de daño hepático. De hecho toda la Química Sanguínea está basada en esa misma lógica: es decir, sabemos que una reacción o ruta metabólica ocurre en un determinado tejido, medimos la actividad de una enzima de esa ruta o medimos la concentración de algún metabolito de esa ruta y hacemos una inferencia sobre el estado funcional del tejido u órgano donde se encuentra ubicada dicha ruta.

En nuestras prácticas de laboratorio de Bioquímica-I, nosotros sabemos qué enzimas y qué metabolitos participan en qué ruta metabólica, por eso mediremos actividades enzimáticas y concentraciones de metabolitos, para poder hacer inferencias sobre el funcionamiento de las rutas metabólicas. En el segundo semestre, en Bioquímica-II, haremos uso de esas habilidades, pero para hacer inferencias sobre el estado funcional de órganos y tejidos.

MSc. Marilù Cerda
Dávila

Dr. Renè Silva A

MSc. Tomàs

PRACTICA # 1

Demostración de la presencia de Metabolitos y enzimas en sangre

Objetivos:

1. Calcular la concentración de metabolitos en sangre mediante espectrofotometría.
2. Calcular la actividad de enzimas en sangre mediante espectrofotometría.
3. Familiarizarse con los procedimientos correctos de manipulación de equipos básicos de química sanguínea (Espectrofotómetro, Micropipetas automáticas de rango variable, Centrífuga, etc.)
4. Familiarizarse con las normas de seguridad en el manejo de muestras biológicas.

Actividades previas al laboratorio:

1. Preparación individual de la guía.
2. El grupo de la mesa de trabajo se reunirá para discutir la guía.

Actividades de laboratorio:

1. Operación del espectrofotómetro, centrífuga y micropipetas.
2. Medición de la concentración de glucosa en sangre.
3. Medición de la actividad de la Alanina Transaminasa (ALT/GPT) en sangre.

Si quieres el éxito recuerda siempre:

- 1. Confía en tu capacidad.**
- 2. Trabaja duro todos los días del mundo.**
- 3. Trabaja en equipo.**
- 4. El profesor es parte de tu equipo.**

PROCEDIMIENTOS

Obtención de las muestras de sangre (10 minutos)

1. Obtenga dos muestras de sangre de 4 ml (en tubos con EDTA) de dos compañeros de su mesa de trabajo. **Identifiquelos debidamente.**
2. Centrifugue ambas muestras a 4000 rpm, por 5 minutos. Balancee el rotor ubicando los tubos en posiciones opuestas. Si el tubo de ensayo queda totalmente dentro de la camisa, utilice una aguja para extraer el tubo.

Medición de la actividad de la ALT (GPT) (10 minutos)

Principio:

Análisis Cinético.

1. L-Alanina + 2-Oxoglutarato + GPT \longrightarrow Piruvato + L-Glutamato
2. Piruvato + NADH + LDH \longrightarrow L-Lactato + NAD
3. Piruvato de la muestra + NADH + LDH \longrightarrow L-Lactato + NAD

Se transfiere el grupo amino enzimáticamente por medio de la ALT presente en la muestra desde la alanina hasta el átomo de carbono del 2-oxoglutarato produciendo piruvato y L-glutamato.

El piruvato se reduce a lactato por medio de la LDH presente en el reactivo con la oxidación simultánea de NADH a NAD. La reacción se sigue midiendo la velocidad de disminución de la absorbancia a 340 nm debida a la oxidación de NADH.

El piruvato endógeno de la muestra se reduce rápida y completamente por medio de la lactato deshidrogenasa (LDH) durante el período de incubación inicial de tal forma que no interfiera con el ensayo.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay dos tubos con solución reactiva para la medición de la ALT(GPT). **Identifique los tubos** para evitar confusiones.

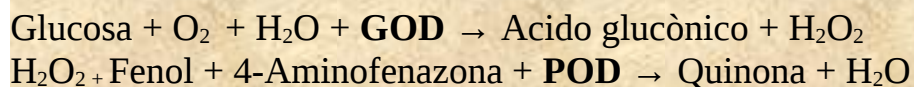
Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Introduzca sus tubos con solución reactiva en el bloque calefactor.
6. Deje incubar por 5 minutos.
7. Presione la tecla "AUX".
8. Digite el número "42" + Enter.
9. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco.
- 10. Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
11. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
12. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el blanco y regréselo al bloque calefactor.
13. Cuando el equipo le pida insertar el tubo de la muestra, agregue primero 100 microlitros de muestra al tubo con la solución reactiva, mezcle suavemente y de inmediato inserte en la celda de lectura.
14. Espere que el equipo ejecute el programa.
15. El resultado aparecerá en pantalla.
16. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
17. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Medición de la concentración de glucosa en sangre (20 minutos)

Principio

Colorimétrico.



La reacción de la Glucosa-oxidasa produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Este último es convertido a H₂O y un producto coloreado, cuya concentración es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay dos tubos con solución reactiva para la medición de la glucosa. **Identifique los tubos** para evitar confusiones.

- Agregue 10 microlitros de muestra a cada tubo.
- Espere 10 minutos.

Autor: Dr. René Silva A.

Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Presione la tecla "AUX".
6. Digite el número "29" + Enter.
7. Cuando el equipo le pida la concentración del estándar digite "100" + Enter.
8. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y de patrón.
9. **Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
10. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
11. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
12. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
13. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
14. Inserte el tubo de la muestra cuando el equipo se lo pida.
15. El resultado aparecerá en pantalla.
16. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
17. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Preguntas para orientar la discusión: (60 minutos)

1. ¿Qué son valores normales o de referencia?
2. ¿Qué requisitos deben cumplir los valores normales para ser confiables?
3. ¿Cómo interpretas los resultados de glucosa y GPT de tu práctica?
Justifica tus respuestas!
4. ¿Qué requisitos deben cumplir un metabolito o una enzima para poder aplicarse en la química sanguínea con fines diagnósticos?
5. ¿Cuáles de los requisitos anteriores fueron cumplidos por el método para la determinación de glucosa y GPT en sangre?
6. Ahora, para ver si realmente has comprendido, haz el siguiente trabajo: Si aún no has recibido la conferencia sobre **glucólisis**, toma cualquier libro de bioquímica (Harper, Montgomery, Lehninger, etc) revisa el tema y haz una propuesta de cómo, utilizando los métodos que hemos utilizado en esta práctica, podríamos diagnosticar el funcionamiento de esta ruta!!!
7. Resume en tus propias palabras la ley de Lambert-Beer!

8. Podemos determinar más de un metabolito o más de una enzima, simultáneamente, en una misma muestra, mediante la espectrofotometría? Argumenta tu respuesta!
9. Que normas de seguridad biológica aplicastes en esta práctica? Justifica tus respuestas!
10. Si una centrifuga genera múltiplos de “g”, entonces para cual de las tres partículas A, B y C (en orden decreciente de masa) se necesita mayor aceleración?

Evaluación:

Esta actividad tiene un valor de 40 puntos. El 50% de la nota depende del nivel de ejecución de las actividades prácticas y el otro 50% de las preguntas de discusión.

Temas para el autoestudio :

1. Manipulación de muestras biológicas.
2. Aplicaciones clínicas de las enzimas.
3. Conceptos básicos de Espectrofotometría.
4. Valores normales en Química Sanguínea.

Bibliografía:

- http://exa.unne.edu.ar/depar/areas/quimica/quimica.analitica/arch_descargas/arch_seminarios2006/EspectrofotometriaGralPasotti.doc (artículo muy completo sobre espectrofotometría)
- <http://www.uhu.es/quimiorg/uv2.html> (excelente animación interactiva que muestra funcionamiento del espectrofotómetro)
- http://www.medvet.una.ac.cr/carrera/mva505_Practica1.pdf (buena tutoría sobre manipulación de micropipetas)
- <http://www.docstoc.com/docs/1499435/Higiene-y-salud-en-un-laboratorio> (muy buen resumen de normas de seguridad en el laboratorio) Lectura obligatoria!
- Bioquímica de Montgomery, 6^{ta} edición, pag. 94-101 (aplicaciones clínicas de las enzimas)
- Bioquímica de Montgomery, 6^{ta} edición, contratapa al inicio y al final del libro. (valores normales)

PRACTICA # 2

Demostración de actividad glucolítica en eritrocitos

Objetivos:

1. Demostrar que las enzimas de la glucólisis no son enzimas extracelulares.
2. Demostrar que los eritrocitos usan glucosa como sustrato energético.

Actividades previas al laboratorio:

1. Preparación individual de la guía.
2. El grupo de la mesa de trabajo se reunirá para discutir la guía.

Actividades de laboratorio:

1. Medición de la concentración de glucosa en suero o plasma.
2. Medición de la concentración de glucosa en sangre entera.

Si quieres el éxito recuerda siempre:

1. **Confía en tu capacidad.**
2. **Trabaja duro todos los días del mundo.**
3. **Trabaja en equipo.**
4. **El profesor es parte de tu equipo.**

PROCEDIMIENTOS

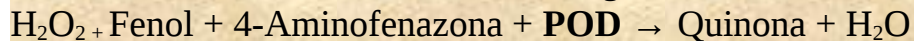
Obtención de las muestras de sangre (10 minutos)

1. Obtenga dos muestras de sangre de 4 ml (en tubos con EDTA) de dos compañeros de su mesa de trabajo. **Identifíquelos con A y B.**
2. Centrifugue ambas muestras a 4000 rpm, por 5 minutos. Balancee el rotor ubicando los tubos en posiciones opuestas. Si el tubo de ensayo queda totalmente dentro de la camisa, utilice una aguja para extraer el tubo.
3. Transfiera (sin revolver) el plasma del tubo A en un tubo de ensayo limpio. (use el rótulo “plasma”).

Medición de la concentración de glucosa en plasma o suero (20 minutos)

Principio

Colorimétrico.



La reacción de la Glucosa-oxidasa produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Este último es convertido a H₂O y un producto coloreado, cuya concentración es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay 4 tubos con solución reactiva para la medición de la glucosa. **Identifique los 4 tubos:** A₁ y A₂ ; B₁ y B₂.

Preparación de las mezclas reactivas:

1. En el tubo A1 agregue 10 microlitros de **plasma separado**, incube 10 minutos y mida la glucosa.
2. En el tubo B1 agregue 10 microlitros de **plasma no separado**, incube 10 minutos y mida la glucosa.
3. Realice simultáneamente el paso 1 y 2.

4. Después de haber extraído los 10 microlitros de plasma del tubo B, de inmediato mezcle por inversión suave, espere 30 minutos, centrifugue y tome 10 microlitros de plasma para una segunda medición de glucosa (use el tubo B2).
5. Realice simultáneamente la segunda medición de glucosa utilizando el plasma separado (use el tubo A2)

Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Presione la tecla "AUX".
6. Digite el número "29" + Enter.
7. Cuando el equipo le pida la concentración del estándar digite "100" + Enter.
8. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y de patrón.
- 9. Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
10. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
11. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
12. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
13. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
14. Inserte el tubo de la muestra cuando el equipo se lo pida.
15. El resultado aparecerá en pantalla.
16. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
17. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Preguntas para orientar la discusión: (60 minutos)

1. Establezca si hay o no hay diferencia en la cantidad de glucosa medida entre los tubos A1 y A2 y entre los tubos B1 y B2!
2. Si usted observó diferencias, explique a qué se deben esas diferencias.
3. Si usted no observó diferencias, diga cuál podría ser la explicación.

4. Diga usted, en el caso de que hubiésemos utilizado células hepáticas, ¿qué podríamos haber observado (teóricamente)? Explíquese!
5. Diga usted, en el caso de que hubiésemos utilizado células musculares, ¿qué podríamos haber observado (teóricamente)? Explíquese!
6. Diga usted, si hubiésemos podido medir el pH de los tubos a los cero y a los 30 minutos, habríamos observado alguna diferencia? Más alcalino o más ácido? Por qué?
7. Diga usted, ¿logró observar alguna evidencia de la glucólisis en nuestro experimento? ¿Cómo?

Evaluación:

Esta actividad tiene un valor de 40 puntos. El 50% de la nota depende del nivel de ejecución de las actividades prácticas y el otro 50% de las preguntas de discusión.

Temas para el autoestudio :

Glucólisis

- Reacciones y enzimas.
- Funciones biológicas.
- Regulación hormonal de la captación de glucosa.
- Regulación de la glucólisis.
- Relación de la glucólisis con otras rutas metabólicas.

Bibliografía:

- Bioquímica de Montgomery, 6^{ta} edición, pag. 187-188, 191-197.
- Bioquímica de Harper, 15^{va} edición, pag. 223-232, 249-253.
- Bioquímica de Mathews Van Holde, 3^a edición, 503-523.
- <http://www.biologia.edu.ar/metabolismo/met3glicolisis.htm>
- <http://html.rincondelvago.com/glucolisis.html>

PRACTICA # 3

Demostración de la homeostasis calòrica en sangre

Objetivos:

1. Demostrar el aumento de la concentración de cuerpos cetònicos en personas sometidas a dieta baja en CHO.
2. Evidenciar la regulación hormonal de las rutas de emergencia.

Actividades previas al laboratorio:

- Preparación individual de la guìa.
- El grupo de la mesa de trabajo se reunirà para discutir la guìa.

Actividades de laboratorio:

1. Medición de la concentración de cuerpos cetònicos en sangre u orina en personas con 2 días de dieta rica en proteínas y grasas, pero pobre en CHO.
2. Medición de la concentración de glucosa en sangre, antes y después de tomar una dosis única de 10 mg de prednisona.

Si quieres el èxito recuerda siempre:

- 5. Confia en tu capacidad.**
- 6. Trabaja duro todos los días del mundo.**
- 7. Trabaja en equipo.**
- 8. El profesor es parte de tu equipo.**

PROCEDIMIENTOS

Obtención de las muestras de sangre y orina (10 minutos)

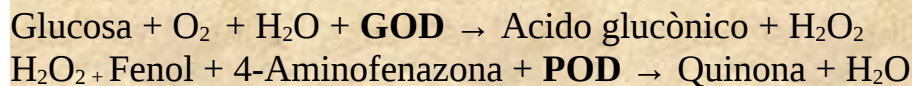
1. Obtenga dos muestras de sangre de 4 ml (en tubos con EDTA) de dos compañeros de su mesa de trabajo. **Identifiquelos.**
2. Centrifugue ambas muestras a 4000 rpm, por 5 minutos. Balancee el rotor ubicando los tubos en posiciones opuestas. Si el tubo de ensayo queda totalmente dentro de la camisa, utilice una aguja para extraer el tubo.
3. Obtenga 2 muestras de orina de dos compañeros de su mesa de trabajo.

Medición de la concentración de glucosa en plasma o suero (20 minutos)

Para esta actividad el Docente seleccionará con antelación a dos estudiantes de la mesa de trabajo para que tomen una tableta de prednisona de 10 mg, 1 hora antes del laboratorio. Consulte a su Docente con suficiente tiempo, quiénes serán los elegidos!

Principio

Colorimétrico.



La reacción de la Glucosa-oxidasa produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Este último es convertido a H₂O y un producto coloreado, cuya concentración es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay 4 tubos con solución reactiva para la medición de la glucosa. **Identifique los tubos.**

Preparación de las mezclas reactivas:

1. Agregar 10 microlitros de plasma al tubo con la solución reactiva.
2. Mezclar e incubar 10 minutos a T ambiente.
3. Proceder a medir.

Autor: Dr. René Silva A.

Medición:

1. Repita el procedimiento para la medición de la glucosa sanguínea indicado en la guía # 2.

Medición cualitativa de la concentración de cuerpos cetónicos en orina (10 minutos)

El Docente elegirá a dos estudiantes del grupo para que realicen una dieta rica en proteínas y grasas , pero pobre en CHO, (por dos días antes del laboratorio) quienes serán los donadores de orina para la práctica.

Principio:

Reacción de Legal : La Acetona y el Acido acetoacético reaccionan con el Nitroprusiato sódico (en medio alcalino) formando Cianhidrinas, que poseen un color violáceo. Este color es un indicador de la presencia de cetonas en orina.

Medición:

- Introduzca la cinta reactiva en el frasco con la muestra de orina fresca, de modo que se humedezcan completamente las áreas reactivas. Evite tocar con los dedos las áreas reactivas.
- Espere 3 segundos y retire, eliminando el exceso de orina de la cinta.
- Compare la cinta contra la referencia impresa en el frasco de las cintas.
- Anote el resultado.

Preguntas para orientar la discusión: (60 minutos)

1. Enuncie usted los nombres de los cuerpos cetónicos.
2. Normalmente los cuerpos cetónicos son indetectables en orina mediante la reacción de Legal. Qué resultado observó con respecto a los cuerpos cetónicos?
3. Cómo justifica el resultado observado?
4. Diga usted qué resultados observó en la glicemia antes y después de la ingesta de prednisona!
5. Cómo justifica los resultados?
6. Proponga usted a su docente otras maneras de evidenciar la homeostasis calórica en sangre.
7. Explique la cetoacidosis diabética.

Nota Importante: No se confunda por el número de preguntas. Las preguntas 3 y 5 son de alta complejidad, y de ellas se derivan muchas preguntas más, las cuales le serán planteadas por su Docente! (ver temas a estudiar más abajo).

Evaluación:

Esta actividad tiene un valor de 40 puntos. El 50% de la nota depende del nivel de ejecución de las actividades prácticas y el otro 50% de las preguntas de discusión.

Temas para el autoestudio :

1. Homeostasis calórica en sangre.
2. Regulación de la homeostasis calórica.
3. Metabolismo de los cuerpos cetónicos.
4. Regulación del metab. de los cuerpos cetónicos.
5. Cetoacidosis diabética.

Bibliografía:

- Bioquímica de Harper, 15^{va} edición, pag. 277-288, 343-351
- Bioquímica de Mathews Van Holde, 3^a edición, pag. 726-727, 931-940
- Bioquímica de Montgomery, 6^{ta} edición, pag. 214-215.
- <http://www.ampweb.info/modules.php?name=Sections&op=viewarticle&artid=17>
- <http://www.encuentros.uma.es/encuentros103/integracion.htm> (parte I)
- <http://www.encuentros.uma.es/encuentros104/pancreas.htm> (parte II)
- <http://www.encuentros.uma.es/encuentros105/metabolismo.htm> (parte III). Los 3 artículos son muy buenos!

PRACTICA # 4

Determinación de productos de eliminación del catabolismo de las proteínas y de las bases nitrogenadas en sangre

Objetivos:

1. Calcular la concentración plasmática de urea.
2. Calcular la concentración plasmática de ácido úrico.

Actividades previas al laboratorio:

- Preparación individual de la guía.
- El grupo de la mesa de trabajo se reunirá para discutir la guía.

Actividades de laboratorio:

1. Medición de la concentración de urea en sangre.
2. Medición de la concentración de ácido úrico en sangre.

Si quieres el éxito recuerda siempre:

- 1. Confía en tu capacidad.**
- 2. Trabaja duro todos los días del mundo.**
- 3. Trabaja en equipo.**
- 4. El profesor es parte de tu equipo.**

PROCEDIMIENTOS

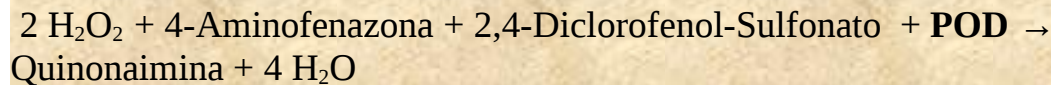
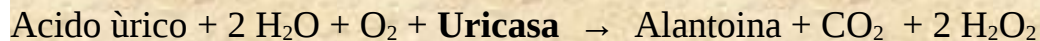
Obtención de las muestras de sangre (10 minutos)

1. Obtenga dos muestras de sangre de 4 ml (en tubos con EDTA) de dos compañeros de su mesa de trabajo. **Identifiquelos.**
2. Centrifugue ambas muestras a 4000 rpm, por 5 minutos. Balancee el rotor ubicando los tubos en posiciones opuestas. Si el tubo de ensayo queda totalmente dentro de la camisa, utilice una aguja para extraer el tubo.

Medición de la concentración de ácido úrico en plasma (20 minutos)

Principio

Colorimétrico.



La Quinonaimina es un producto coloreado, y su concentración es directamente proporcional a la concentración del ácido úrico en la muestra.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay 2 tubos con solución reactiva para la medición de ácido úrico.

Preparación de las mezclas reactivas:

1. Agregar 25 microlitros de plasma al tubo con solución reactiva.
2. Mezclar e incubar 10 minutos a T ambiente.
3. Este método requiere de la preparación de un blanco y un patrón. En este caso el blanco sólo contiene 1 ml de la solución reactiva, mientras que el patrón contiene además 25 microlitros de la solución patrón. Ambos tubos, blanco y patrón ya fueron previamente preparados por el responsable del laboratorio, ya que todos usarán el mismo blanco y el mismo patrón.
4. Proceder a medir.

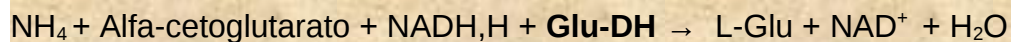
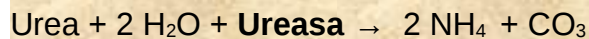
Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Presione la tecla "AUX".
6. Digite el número "1 + Enter.
7. Cuando el equipo le pida la concentración del estándar digite "6"+ Enter.
8. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y de patrón.
- 9. Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
10. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
11. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
12. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
13. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
14. Inserte el tubo de la muestra cuando el equipo se lo pida.
15. El resultado aparecerá en pantalla.
16. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
17. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Medición de la concentración de urea en plasma (20 minutos)

Principio:

Cinético.



La disminución de la absorbancia por disminución de la concentración de NADH,H es directamente proporcional a la concentración de la urea en la muestra.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay 2 tubos con solución reactiva para la medición de urea. Identifique los tubos para evitar confusión.

Autor: Dr. René Silva A.

Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Introduzca sus tubos con solución reactiva en el bloque calefactor.
6. Deje incubar por 5 minutos.
7. Presione la tecla "AUX".
8. Digite el número "54" + Enter.
9. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y patrón.
- 10. Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
11. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
12. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el blanco y regréselo al bloque calefactor.
13. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
14. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el patrón y regréselo al bloque calefactor.
15. Cuando el equipo le pida insertar el tubo de la muestra, agregue primero 10 microlitros de muestra al tubo con la solución reactiva, mezcle rápido e inserte en la celda.
16. Espere que el equipo ejecute el programa.
17. El resultado aparecerá en pantalla.
18. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
19. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Preguntas para orientar la discusión: (60 minutos)

1. Diga qué resultados obtuvo en su práctica! Interpretelos!
2. Diga de qué maneras usted podría influenciar los resultados obtenidos!
3. Diga qué es hiperuricemia y cómo se clasifican las hiperuricemias!
4. Explique diferentes causas de hiperuricemias primarias!
5. Explique diferentes causas de hiperuricemias secundarias.
6. Diga cómo se relacionan las hiperamonemias con el ciclo de la urea!
7. Cómo se clasifican las hiperamonemias?
8. Explique la encefalopatía hepática!

Evaluación:

Esta actividad tiene un valor de 40 puntos. El 50% de la nota depende del nivel de ejecución de las actividades prácticas y el otro 50% de las preguntas de discusión.

Temas para el autoestudio :

1. Catabolismo de las purinas.
2. Ruta de rescate de las purinas.
3. Ciclo de la urea.
4. Hiperamonemias.
5. Hiperuricemias.

Bibliografía:

- Bioquímica de Harper, 15^{va} edición, pag. 447-448, 452-459, 363-373.
- Bioquímica de Mathews Van Holde, 3^a edición, pag. 812-817, 898-902, 890-893.
- Bioquímica de Montgomery, 6^{ta} edición, pag. 254-259, 288-289, 293, 446-452, 458-459.
- http://www.fuedin.org/Publicacion/Manual_Fisiopatologia/Capitulos/capitulo13.html
- www.sochire.cl/filemanager/download/648/Artritis_inducida_cristales_DraLorenaSoto.pdf -
- <http://guillermo.garciav.googlepages.com/ciclourea.pdf>
- <http://www.ae3com.org/protocolos/protocolo1.pdf>

PRACTICA # 5

Determinación del índice aterogénico (Índice de Castelli)

Objetivos:

1. Calcular la relación colesterol total/colesterol-HDL en sangre.

Actividades previas al laboratorio:

- Preparación individual de la guía.
- El grupo de la mesa de trabajo se reunirá para discutir la guía.

Actividades de laboratorio:

3. Medición de la concentración de colesterol total en sangre.
4. Medición de la concentración de colesterol-HDL en sangre.

Si quieres el éxito recuerda siempre:

- 5. Confía en tu capacidad.**
- 6. Trabaja duro todos los días del mundo.**
- 7. Trabaja en equipo.**
- 8. El profesor es parte de tu equipo.**

PROCEDIMIENTOS

Obtención de las muestras de sangre (10 minutos)

1. Obtenga dos muestras de sangre de 4 ml (en tubos con EDTA) de dos compañeros de su mesa de trabajo: **un varón y una mujer en ayunas!**
2. Centrifugue ambas muestras a 4000 rpm, por 5 minutos. Balancee el rotor ubicando los tubos en posiciones opuestas. Si el tubo de ensayo queda totalmente dentro de la camisa, utilice una aguja para extraer el tubo.

Medición de la concentración de colesterol total en sangre (20 minutos)

Principio:

Colorimétrico:

Èsteres de colesterol + H₂O + **Colesterol-Esterasa** → Colesterol + àcidos grasos libres

Colesterol + O₂ + **Colesterol-Oxidasa** → Colestenona + H₂O₂

2 H₂O₂ + Fenol + 4-Aminofenazona + **POD** → Quinonimina + 4 H₂O

La Quinonimina es un producto coloreado, cuya conc. es directamente proporcional a la conc. del colesterol en la muestra.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y estàn listos para su uso. En su mesa hay 2 tubos con solución reactiva para la medición de colesterol total.

Preparación de las mezclas reactivas:

1. Agregar 10 microlitros de plasma al tubo con solución reactiva.
2. Mezclar e incubar 10 minutos a T ambiente.

3. Este método requiere de la preparación de un blanco y un patrón. En este caso el blanco sólo contiene 1 ml de la solución reactiva, mientras que el patrón contiene además 10 microlitros de la solución patrón. Ambos tubos, blanco y patrón ya fueron previamente preparados por el responsable del laboratorio, ya que todos usarán el mismo blanco y el mismo patrón.
4. Proceder a medir.

.Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Presione la tecla "AUX".
6. Digite el número "11" + Enter. Cuando el equipo le pida la concentración del estándar digite "200"+ Enter.
7. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y de patrón.
8. **Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
9. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
10. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
11. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
12. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
13. Inserte el tubo de la muestra cuando el equipo se lo pida.
14. El resultado aparecerá en pantalla.
15. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
16. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Medición de la concentración de colesterol-HDL en sangre (40 minutos)

Principio:

Precipitación con ácido fosfotúngstico:

El ácido fosfotúngstico precipita todas las lipoproteínas menos las HDL, dejándola libre para reaccionar según el método de medición de colesterol total

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay 2 tubos con solución precipitante.

Preparación de las mezclas reactivas:

1. Agregar 100 microlitros de plasma al tubo con solución precipitante.
2. Mezclar e incubar 10 minutos a T ambiente.
3. Centrifugar 20 minutos a 4000 rpm.
4. Agregue 10 microlitros del sobrenadante a un tubo con solución reactiva para la determinación de colesterol total.
5. Este método requiere de la preparación de un blanco y un patrón. En este caso el blanco sólo contiene 1 ml de la solución reactiva, mientras que el patrón contiene además 10 microlitros de la solución patrón. Ambos tubos, blanco y patrón ya fueron previamente preparados por el responsable del laboratorio, ya que todos usarán el mismo blanco y el mismo patrón.
6. Proceder a medir.

Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Presione la tecla "AUX".
6. Digite el número "11" + Enter. Cuando el equipo le pida la concentración del estándar digite "200"+ Enter.
7. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y de patrón.
- 8. Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
9. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
10. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
11. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
12. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
13. Inserte el tubo de la muestra cuando el equipo se lo pida.
14. El resultado aparecerá en pantalla.
15. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
16. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Preguntas para orientar la discusión: (60 minutos)

1. Diga qué resultados obtuvo en su práctica! Interpretelos!
2. Pudo usted observar diferencias entre los resultados de varones y mujeres? Cómo se explican?
3. Explique por qué se considera beneficioso tener altos niveles de HDL.
4. Explique por qué se considera malo tener valores elevados de LDL.
5. En una hipertrigliceridemia, cuál de las lipoproteínas estaría aumentada?
6. Describa usted situaciones que podrían llevar a diferentes tipos de hiperlipidemias.
7. Diga usted qué lógica tiene que al índice de Castelli se le llame también índice aterogénico?

Evaluación:

Esta actividad tiene un valor de 40 puntos. El 50% de la nota depende del nivel de ejecución de las actividades prácticas y el otro 50% de las preguntas de discusión.

Temas para el autoestudio :

1. Lipoproteínas.
2. Clasificación de las hiperlipidemias.
3. Papel de las LDL en la aterogénesis.
4. Rol protector de la HDL.
5. Índice de Castelli.

Bibliografía:

- Bioquímica de Harper, 15^{va} edición, pag. 309-320, 333-342.
- Bioquímica de Mathews Van Holde, 3^a edición, pag. 705-714
- Bioquímica de Montgomery, 6^{ta} edición, pag. 356-388
- <http://www.geosalud.com/Nutricion/colesterol.htm> (excelente artículo sobre índice de Castelli)
- <http://crf.medynet.com/contenido/2000/2/75-89.pdf> (excelente artículo sobre aterogénesis)

PRACTICA # 6

Ingesta de macro y micronutrientes

Objetivos:

1. Calcular la concentración de albúmina en sangre
2. Calcular la ingesta de macro y micronutrientes usando recordatorio de 24 horas y las tablas de LATINFOODS

Actividades previas al laboratorio:

- Preparación individual de la guía.
- El grupo de la mesa de trabajo se reunirá para discutir la guía.
- Cada estudiante (de manera individual), utilizando el instructivo al final de esta guía realizará un recordatorio de 24 horas de su ingesta alimentaria, y con esos datos calculará la cantidad de macro y micronutrientes que ingiere. Para esto utilizará las tablas que aparecen en el portal de Internet de LATINFOODS :

<http://www.rlc.fao.org/es/bases/alimento/default.htm>

Cada estudiante deberá presentar por escrito, el día de esta práctica su recordatorio de 24 horas y su ingesta de macro y micronutrientes correspondientes. **Si usted no lo presenta no tendrá derecho a realizar la práctica!**

Actividades de laboratorio:

- Medición de la concentración de albúmina en sangre.

Si quieres el éxito recuerda siempre:

1. **Confía en tu capacidad.**
2. **Trabaja duro todos los días del mundo.**
3. **Trabaja en equipo.**
4. **El profesor es parte de tu equipo.**

PROCEDIMIENTOS

Obtención de las muestras de sangre (10 minutos)

1. Obtenga dos muestras de sangre de 4 ml (en tubos con EDTA) de dos compañeros de su mesa de trabajo.
2. Centrifugue ambas muestras a 4000 rpm, por 5 minutos. Balancee el rotor ubicando los tubos en posiciones opuestas. Si el tubo de ensayo queda totalmente dentro de la camisa, utilice una aguja para extraer el tubo.

Medición de la concentración de colesterol total en sangre (20 minutos)

Principio:

Colorimétrico:

Bromocresol green (BCG) + Albúmina → BCG-Albúmina-Complejo

El complejo Albúmina-BCG genera un producto coloreado que se puede medir colorimétricamente.

Preparación de los reactivos:

Los reactivos ya han sido previamente preparados por el responsable del laboratorio, y están listos para su uso. En su mesa hay 2 tubos con solución reactiva para la medición de la albúmina.

Preparación de las mezclas reactivas:

1. Agregar 10 microlitros de plasma al tubo con solución reactiva.
2. Mezclar e incubar 10 minutos a T ambiente.
3. Este método requiere de la preparación de un blanco y un patrón. En este caso el blanco sólo contiene 1 ml de la solución reactiva, mientras que el patrón contiene además 10 microlitros de la solución patrón. Ambos tubos, blanco y patrón ya fueron previamente preparados por el responsable del laboratorio, ya que todos usarán el mismo blanco y el mismo patrón.
4. Proceder a medir.

Medición:

1. Verifique que el equipo está conectado al estabilizador.
2. Encienda el estabilizador.
3. Encienda el equipo presionando el botón en el panel trasero.
4. Espere que la pantalla indique 37 °C.
5. Presione la tecla "AUX".
6. Digite el número "2" + Enter. Cuando el equipo le pida la concentración del estándar digite "5"+ Enter.
7. Todos los grupos usarán el mismo tubo de blanco y de patrón.
- 8. Todos los tubos deben ser limpiados (frótelos con su gabacha) cada vez antes de ser insertados en la celda de medición!!!**
9. Inserte el tubo del blanco cuando el equipo se lo pida.
10. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
11. Inserte el tubo del patrón cuando el equipo se lo pida.
12. Cuando aparezca la lectura en la pantalla retire el tubo y regréselo al bloque calefactor.
13. Inserte el tubo de la muestra cuando el equipo se lo pida.
14. El resultado aparecerá en pantalla.
15. **Anote primero el resultado** y después retire el tubo.
16. El equipo ya queda listo para seguir midiendo las siguientes muestras.

Preguntas para orientar la discusión: (60 minutos)

1. Diga qué resultados obtuvo en su práctica! Interpretélos!
2. Compare el resultado obtenido en la práctica con el resultado calculado en base a la encuesta dietaria!
3. Diga usted por qué se utiliza la medición de la albúmina sérica como marcador nutricional!
4. Además de la albúmina sérica que otros parámetros de química sanguínea podríamos utilizar para medir el estado nutricional? Justifique su respuesta!.
5. Compare los resultados obtenidos a partir de su recordatorio de 24 horas con la ingesta nutricional promedio del país! Haga un análisis de las probables causas y consecuencias.

Evaluación:

Esta actividad tiene un valor de 40 puntos. El 50% de la nota depende del nivel de ejecución de las actividades prácticas y el otro 50% de las preguntas de discusión.

Temas para el autoestudio :

1. Composición ideal de la dieta.
2. Requerimientos diarios de macronutrientes.
3. Requerimientos diarios de micronutrientes.
4. Demanda calórica.

Bibliografía:

- Apuntes de las conferencias de la unidad de Nutrición.
- Bioquímica de Montgomery, 6^a edición, capítulo I
- Bioquímica de Harper, 15^{va} edición, capítulo 54.
- Conocimientos actuales sobre nutrición de la OPS, 7^{ma} Ed.
- http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/profiles_by_country_es.stm#america
- <http://www.rlc.fao.org/es/bases/alimento/default.htm>
- http://www.nutrinfo.com/pagina/tabla_nutricional.php
- <http://www.iom.edu/Object.File/Master/21/372/0.pdf> (Tablas de recomendaciones dietarias diarias)
- <http://www.inta.gob.ni/biblioteca/guias/guia-seguridad-nutricional.pdf>

Autor: Dr. Renè Silva A.

TIPO DE COMIDA: Antes del desayuno, desayuno, media-mañana, almuerzo, algo, comida, merienda y entrecomadas.

HORA: Momento en el cual, la persona ingiere cada tipo de comida.

LUGAR: Sitio donde la persona ingiere cada tipo de comida.

NOMBRE DE LA PREPARACION: Es el nombre que la persona asigna a cada una de las preparaciones y/o recetas que componen cada tipo de comida. Ej: Sopa de frijoles, frijoles con coles, frisoles; estos nombres no es posible estandarizarlas, debido a que cada persona lo llama según sus costumbres.
Es opcional incluir la cantidad total de la preparación.

INGREDIENTES: Se deben describir en detalle cada uno de los ingredientes que componen una preparación.
Ej: Fríjol cargamento cocido, papa común sin cáscara cocida, manteca de cerdo, plátano hartón verde cocido.
Leche de vaca en polvo entera, repollo morado cocido, repollo verde crudo, zanahoria cocida.
Tenga en cuenta que esta precisión se requiere para buscar en la tabla de composición, el alimento mas semejante y obtener su información nutricional.

MEDIDA CASERA: Al frente de cada alimento, se debe escribir la cantidad y la medida casera de cada uno de los ingredientes. Tenga en cuenta que únicamente se relaciona la cantidad ingerida y que solo puede utilizar el término "porción", cuando el encuestador la tenga previamente estandarizada.
Ej: ½ pocillo chocolatero, 1/5 de libra, una tajada delgada, 3 unidades medianas, una cucharada sopera rasa, un mug, un vaso mediano, un vaso grande.
Esta determinación de cantidades es muy importante, porque se requiere para definir la cantidad en gramos ingeridos y de ello depende, la precisión en la cuantificación de la ingesta y la determinación del riesgo nutricional.

GRAMOS: Al frente de cada medida casera, escriba la cantidad en gramos ó centímetros cúbicos que le corresponde.
Recuerde que se registra de una vez la parte comestible del alimento, teniendo en cuenta la forma en que se va a hacer el análisis, es decir, : crudo , cocido, con cáscara, sin semilla, sin hueso. Sea muy preciso en la determinación del peso de cada uno de los alimentos.

Autor: Dr. Renè Silva A.

OTRAS OBSERVACIONES ÚTILES:

1. **Absorción de grasa:** Se recomienda tener en cuenta los siguientes valores:

Alimento	% absorción de grasa
Patacón de cualquier plátano	19.0%
Yuca frita	4.6%
Carnes fritas de res o cerdo	5.9%
Pollo frito, cualquier parte	4.5%
Pescado frito	5.3%
Otros alimentos fritos que no tienen incluida la información en la TCA *	10.0%

2. **Ingesta de suplementos y complementos:** Siempre, en los recordatorios de 24 horas, se debe registrar el consumo de estos productos, especificando el nombre y la cantidad.
3. **Ingesta de licor:** en el recordatorio de 24 horas siempre se debe de preguntar el tipo de licor y la cantidad ingerida el día anterior.
4. **Observaciones:** Idealmente, un recordatorio debe disponer de un espacio para aclarar aspectos importantes como: frecuencia en el consumo de suplementos y complementos, preferencias y rechazos.
5. **Posibilidad de análisis:** Un solo recordatorio es un análisis muy débil para establecer el riesgo nutricional; los resultados se deben mirar con precaución y relacionarlos con indicadores clínicos, bioquímicos y antropométricos.

EJEMPLO DE TABLA PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN DE CONSUMO DE ALIMENTOS EN 24 HORAS

Tipo de comida	Hora	Lugar	Nombre de Preparación	Ingredientes	Medida casera	Gramos ò mililitros

Autor: Dr. Renè Silva A.

